



Enzimas Extracelulares de Solos de Cerrado como Bioindicadores de Qualidade em Áreas Agricultáveis em Goiás, Brasil

Leciana de Menezes Sousa Zago ¹

Rogério Nunes Oliveira ²

Anne Kethlen Gonçalves Bombonato ³

Letícia Mikaelly de Oliveira Moreira ⁴

Erik Nelson de Paiva Melo ⁵

Samantha Salomão Caramori ⁶

RESUMO:

A conversão de áreas nativas de Cerrado para a implantação de lavouras altera as propriedades físico-químicas e bioquímicas do solo. Neste estudo buscou-se compreender o efeito da sazonalidade do tipo de manejo utilizado para plantio de cana-de-açúcar sobre a atividade de hidrolases e oxirredutases. Amostras de solo de Cerrado nativo e solos convertidos a lavouras de cana-de-açúcar sob diferentes tipos de manejo foram submetidos a avaliações físico-química, biológica e bioquímica. A implantação de monoculturas no Cerrado provocou reduções na quantidade de matéria orgânica e carbono orgânico em relação ao Cerrado nativo, o que por sua vez refletiu em menor atividade biológica do solo. Dessa forma, foi possível constatar que hidrolases e oxidorredutases são sensíveis a variações ocasionadas por eventos de seca versus chuva, e também em função do tipo de cobertura vegetal e tipo de manejo utilizado para implantação de cultura agrícola de cana e, portanto, podem ser utilizadas como bioindicadores de qualidade em solos de Cerrado goiano.

Palavras chave: Cana-de-açúcar; Manejo do solo; Hidrolases; Oxidorredutotases.

¹ Mestre em Recursos Naturais do Cerrado pela Universidade Estadual de Goiás – UEG. Docente na Universidade Estadual de Goiás – UEG. Brasil. leciamazago@hotmail.com

² Mestre em Recursos Naturais do Cerrado pela Universidade Estadual de Goiás - UEG. rogerio.felino@outlook.com

³ Graduada em Química pela Universidade Estadual de Goiás – UEG. Brasil. anne_bombonato@hotmail.com

⁴ Mestrado em andamento em Ciências Aplicadas a Produtos para a Saúde pela Universidade Estadual de Goiás – UEG. Brasil. leticiamikaelly28@hotmail.com

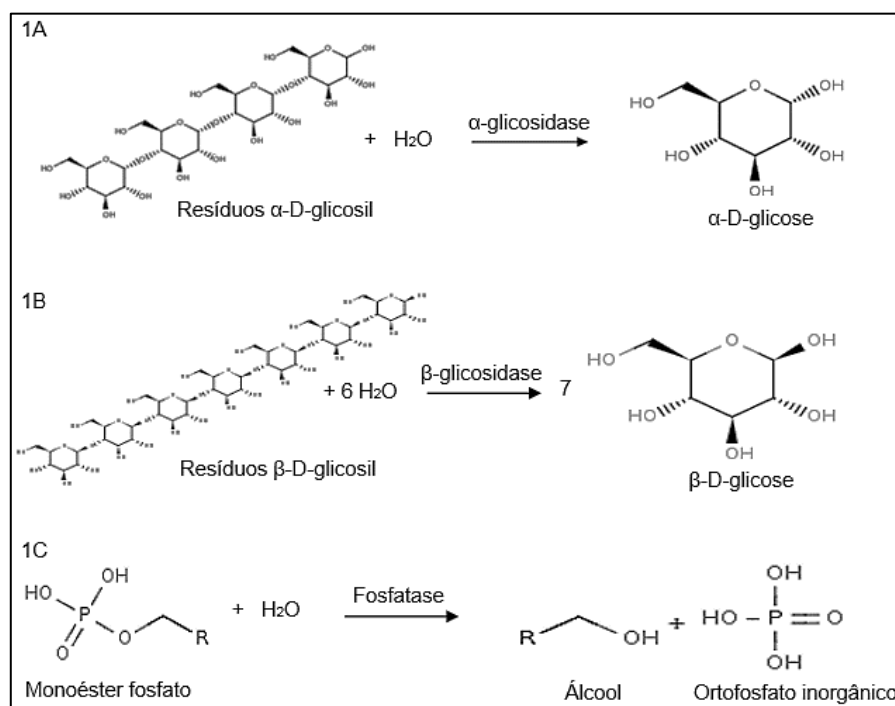
⁵ Mestre em Ciências Moleculares pela Universidade Estadual de Goiás - UEG, Brasil. paiva.eriknelson@gmail.com

⁶ Doutora em Ciências Biológicas pela Universidade Federal de Pernambuco – UFPE. Docente na Universidade Estadual de Goiás – UEG. Brasil. sscaramori@gmail.com

Leciana de M. S. Zago; Rogério N. Oliveira; Anne Kethlen G. Bombonato; Letícia de O. Moreira;
Erik Nelson de P. Melo; Samantha S. Caramori

A cana-de-açúcar é destaque na economia brasileira por ser utilizada como fonte de produção do etanol, um biocombustível que possui menor impacto na atmosfera quando comparado aos tradicionais combustíveis fósseis (Leite & Leal 2007, Gouvêa et al. 2009). O Estado de Goiás é o segundo maior produtor dessa monocultura no país com uma safra em 2014/15 de 66, 329 milhões de toneladas produzidas, um aumento de 7, 0% em relação à safra anterior. Devido a sua múltipla utilização, a cana-de-açúcar constitui-se como matéria prima básica para importantes produtos da indústria sucroalcooleira no Brasil. Os produtos da cana geraram cerca de 35, 56 milhões de toneladas de açúcar e 28, 66 bilhões de litros de etanol em 2014/15 (CONAB 2014).

Figura 01. Representação da Hidrólise de Substratos Orgânicos pela Ação de Diferentes Tipos de Enzimas Hidrolases.



1A: Reação catalisada pela enzima α -glicosidase; 1B: Reação catalisada pela enzima β -glicosidase; 1C: Reação catalisada pela enzima fosfatase ácida

Fonte: Adaptado de Brenda 2014.

O preparo de cultivos agrícolas provoca alterações nos atributos físicos, químicos e biológicos no ambiente do solo (Souza et al. 2005) e o manejo inadequado pode ocasionar a perda de matéria orgânica, compactação e erosão, além de prejuízos a microbiota do solo, interferindo em seus processos bioquímicos (Araújo & Monteiro 2007, Carneiro et al. 2009). A atividade enzimática do solo é um indicador sensível que pode ser utilizado no monitoramento de alterações ambientais sob diferentes tipos de manejo (Matsuoka 2006, Passos et al. 2008). Os microrganismos do solo, os quais contêm as enzimas específicas, desempenham um papel importante na manutenção da qualidade desse

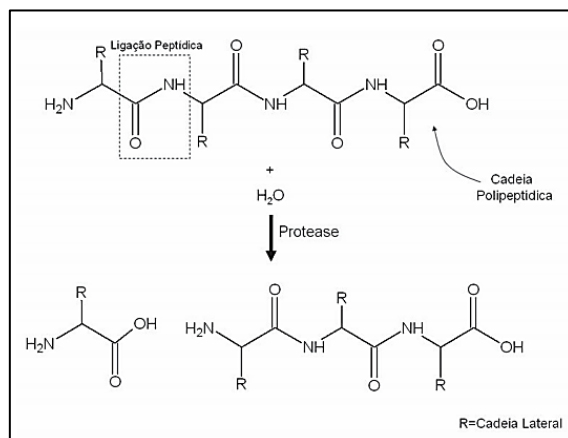
Leciana de M. S. Zago; Rogério N. Oliveira; Anne Kethlen G. Bombonato; Letícia de O. Moreira;
Erik Nelson de P. Melo; Samantha S. Caramori

ecossistema, nos processos biológicos, incluindo a degradação da matéria orgânica, mineralização e reciclagem de nutrientes (Li et al. 2009).

Enzimas extracelulares, tais como as hidrolases (α e β -glicosidases, fosfatases, proteases) e oxidorreduases (fenoxidases e peroxidases), são conhecidas por desempenhar papéis importantes ligadas aos ciclos dos principais elementos do solo, como C, P e N e podem fornecer informações sobre o estado de inúmeras reações necessárias ao ciclo de vida dos microrganismos, que atuam na degradação de moléculas orgânicas complexas em moléculas simples que podem ser assimiladas por esses organismos e pelos demais seres que vivem no solo, além das raízes de plantas (Martínez et al. 2007, Silveira 2007). As alfa-glicosidases (EC 3.2.1.20) e beta-glicosidases (EC 3.2.1.21), por exemplo, catalisam a hidrólise de diferentes glicosídeos e desempenham um papel importante na quebra de oligossacarídeos de baixa massa molecular para a produção de monossacarídeos, sendo a principal fonte de energia para os microrganismos no solo (Martínez et al. 2007) (Figura 1A, B). Para a mineralização do fósforo, as fosfatases (EC 3.1.3.2) catalisam a hidrólise de ésteres de fosfatos, promovendo sua liberação na forma inorgânica a partir fósforo orgânico, disponibilizando-o para as plantas e demais organismos no solo (Tabatabai 1994, Kedi et al. 2012) (Figura 1C).

As proteases (EC 3.4.2.1-24) são produzidas por uma vasta gama de bactérias, fungos e plantas (Kumar & Takagi 1999) e tem geralmente uma grande especificidade pelos seus substratos, degradando a maioria das proteínas não estruturais (Kalisz 1988) (Figura 2). De acordo com Geisseler e Horwath (2008), a atividade da protease do solo está interligada com a disponibilidade de carbono e nitrogênio e a evolução do CO₂, e responde positivamente ao aumento da biomassa microbiana (Asmar et al. 1992).

Figura 02. Representação da Hidrólise Proteica Catalisada pela Enzima Protease.

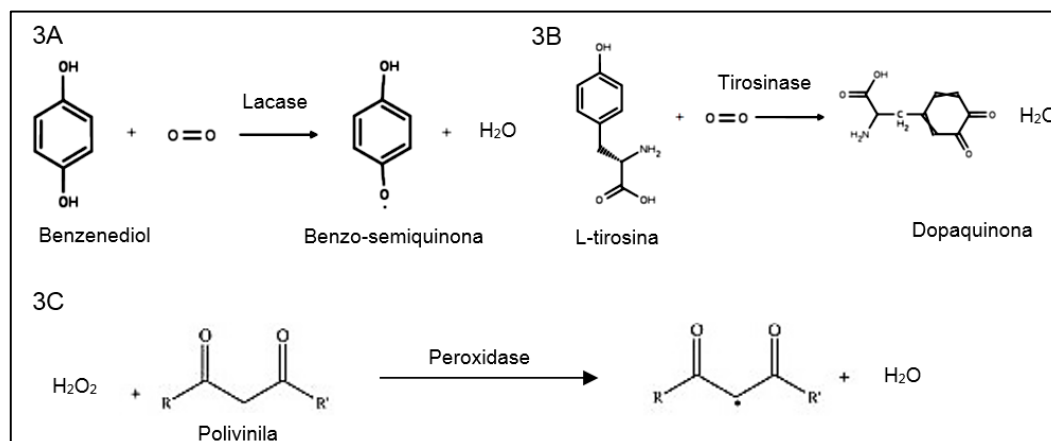


Fonte: Lima et al. 2008.

Leciana de M. S. Zago; Rogério N. Oliveira; Anne Kethlen G. Bombonato; Letícia de O. Moreira;
Erik Nelson de P. Melo; Samantha S. Caramori

As enzimas fenoloxidase (EC 1.10.3.2) e peroxidase (EC 1.11.1.7) desempenham funções chave no ecossistema, como a degradação da lignina, humificação e mineralização do carbono (Figura 3). Essas enzimas reduzem a toxicidade das moléculas fenólicas e de íons metálicos, e ajudam na defesa antimicrobiana (Sinsabaugh 2010).

Figura 03. Representação da Ação de Enzimas Oxidorredutases.



3A: Reação catalisada pela classe das lacases; 3B: Reação catalisada pela enzima polifenoloxidase; 3C: Mecanismo de ação catalítica de enzima peroxidase

Fonte: Adaptado de Brenda 2014; Albuquerque et al. 2014.

Diante desse contexto, o presente estudo objetivou compreender o efeito da sazonalidade e tipo de manejo utilizado para plantio de cana-de-açúcar sobre a atividade de hidrolases e oxirredutases, testando a hipótese de que a remoção da vegetação nativa para implantação de monoculturas ocasiona alterações nos atributos químicos do solo, assim como na atividade de hidrolases (α e β -glicosidase, fosfatase ácida e protease) e oxirredutases (peroxidase e fenoloxidase) e dessa forma interfere na qualidade do solo.

METODOLOGIA

ÁREAS DE ESTUDO E AMOSTRAGEM DO SOLO

O estudo foi conduzido em áreas de Cerrado convertidas à lavoura de cana-de-açúcar e pastagem, além de áreas de vegetação nativa, que foram consideradas como controle. A avaliação da qualidade do solo foi realizada em 5 áreas de cultivo de cana-de-açúcar, 2 áreas de Cerrado nativo e 1 área de pastagem localizada no estado de Goiás. O clima da região é tropical úmido, com dois períodos de seca e chuva bem definidos. Todas as amostras foram obtidas durante os períodos de seca e chuva, entre os meses de novembro de 2012 a abril de 2014.

Leciana de M. S. Zago; Rogério N. Oliveira; Anne Kethlen G. Bombonato; Letícia de O. Moreira;
Erik Nelson de P. Melo; Samantha S. Caramori

No município de Anicuns, Goiás (16°27'29"S 49°58'12"W) foram selecionadas três áreas com diferentes tipos de manejo. As áreas consistiram em um sistema de cultivo orgânico e convencional com adição de torta de filtro e adubação química (Amostra 1), um sistema de cultivo convencional com adição de adubo químico (Amostra 2) e um sistema de cultivo orgânico com adição de torta de filtro irrigado com vinhaça (Amostra 3).

No município de Inhumas, Goiás (16°20'38"S 49°29'53"W) foram selecionados dois pontos de coleta. As áreas selecionadas foram um sistema de cultivo orgânico com adição de vinhaça diluída (Amostra 4) e um sistema de cultivo orgânico com adição de vinhaça concentrada (Amostra 5).

As amostras controle de solos de Cerrado nativo foram coletadas em Anápolis, Goiás (16°23'40"S 48°57'32"W) em uma área com aproximadamente 1,6 Km² e que abrange três tipos de fitofisionomias: cerrado *sensu stricto*, mata mesófila e mata de galeria. As coletas foram realizadas apenas nas áreas de cerrado *sensu stricto* e mata mesófila, além de uma área de pastagem (16°23'10.97"S 48°56'33.29"W) ao lado da área acima citada.

As áreas de coleta foram delimitadas em quadrados segundo metodologia de Babujia et al. (2010, adaptado), na profundidade de 0-10 cm. Três subamostras de solo foram coletadas nos 8 pontos de amostragem e foram reunidas, formando amostras compostas que foram tamisadas (2mm) e armazenadas a 4 °C até o momento da realização das análises. O teor de umidade foi calculado após a secagem do solo em estufa por 24h a 105 °C e as análises de atividade enzimática foram realizadas com base na massa seca de solo.

ENSAIOS ENZIMÁTICOS

A atividade das enzimas α e β -glicosidases e fosfatase ácida foram avaliadas segundo o método descrito por Tabatabai (1994, modificado) e Baldrian et al. (2005). A metodologia baseia-se na determinação colorimétrica de *p*-nitrofenol formado a partir da hidrólise de substratos específicos: *p*-nitrofenil- β -D-glicopiranosídeo, *p*-nitrofenil- α -D-glicopiranosídeo e *p*-nitrofenilfosfato, respectivamente.

Para determinação da atividade de α e β -glicosidases e fosfatase ácida foram utilizados 0,05 g de solo (massa seca) e 0,8 mL dos substratos específicos na concentração 1,2 mmol L⁻¹, preparados em tampão acetato de sódio (50 mmol L⁻¹; pH 5,0). A mistura foi incubada a 40 °C durante 60 min e a reação foi interrompida pela adição de 0,5 mL de carbonato de sódio (50 mmol L⁻¹). O controle diferiu-se pela adição de tampão acetato de sódio em substituição aos substratos específicos e a

Leciana de M. S. Zago; Rogério N. Oliveira; Anne Kethlen G. Bombonato; Letícia de O. Moreira;
Erik Nelson de P. Melo; Samantha S. Caramori

formação de *p*-nitrofenol formado a partir da reação foi mensurado a 400 nm. A atividade enzimática foi calculada com base no gráfico de calibração e foi expressa em micromol de produto formado por grama de solo seco por hora de reação ($\mu\text{mol de produto g}^{-1} \text{ h}^{-1}$).

Para a determinação da atividade da protease foi utilizado o método descrito por Ladeira et al. (2010). Para 0,05 g de solo (massa seca) foi adicionado a 1,0 mL de azocaseína (0,2%, p/v) dissolvida em tampão Tris-HCl (0,2 mol L⁻¹; pH 8,5) e a mistura foi incubada a 37 °C por 10 min. A reação foi interrompida pela adição de 0,5 mL de ácido tricloroacético 15 % (TCA, p/v). Após centrifugação o sobrenadante foi colocado em tubos de ensaio contendo 0,5 mL de NaOH (0,1 mol L⁻¹) e a absorbância determinada a 420 nm. A diferença do controle foi dada pela adição do TCA antes do substrato. A atividade de protease foi expressa em unidade de enzima por grama por hora de reação (U g⁻¹ h⁻¹), considerando que uma unidade de protease é definida como a quantidade de enzima necessária para produzir um aumento na absorbância, a 420 nm, igual a 0,1 em 60 min. As atividades de peroxidase e fenoloxidase foram avaliadas de acordo com a metodologia de Sinsabaugh et al. (1999). Para a determinação da atividade de fenoloxidase foi adicionado 0,05 g de solo (massa seca), 1 mL de L-3, 4-dihidroxifenilalanina (L-DOPA) e 10 mL tampão acetato de sódio (0,1 mol L⁻¹; pH 5,0). A atividade de peroxidase foi realizada de modo semelhante ao ensaio de fenoloxidase, diferindo-se apenas pela adição de 0,2 mL de peróxido de hidrogênio (0,3%, v/v). Para o ensaio controle houve a adição de tampão acetato de sódio (0,1 mol L⁻¹; pH 5,0) em substituição ao substrato. As misturas reacionais foram incubadas em temperatura ambiente por 60 min e a formação de produto foi monitorado a 460 nm. A atividade das enzimas fenoloxidase e peroxidase foi calculada com base no coeficiente de extinção micromolar de 1,29 μmol (Sinsabaugh et al. 1999) e foram expressas em micromol de 3-dihidroindol-5, 6-quinona-2-carboxilato de metila (DIQC) por hora de reação por grama de massa seca ($\mu\text{mol DIQC h}^{-1} \text{ g}^{-1}$ de massa seca de solo).

PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DO SOLO

Foram determinadas as seguintes propriedades físico-químicas das amostras de solo: pH, capacidade de troca catiônica, matéria orgânica, carbono e nitrogênio total, saturação por base e alumínio. As análises foram realizadas com base na metodologia descrita pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA 1997) pelo Laboratório Terra Análises para Agropecuária, localizado na cidade de Goiânia, Goiás.

Leciana de M. S. Zago; Rogério N. Oliveira; Anne Kethlen G. Bombonato; Letícia de O. Moreira;
Erik Nelson de P. Melo; Samantha S. Caramori

ANÁLISES ESTATÍSTICAS

A atividade enzimática foi analisada via análise de variância (ANOVA Three-way) com um arranjo fatorial de 3 x 2 x 3 (pontos, períodos do ano, tipos de uso do solo). O teste de Tukey (análise post-hoc) foi utilizado para comparação de médias, considerando significativo $p < 0,05$. Tais testes foram aplicados devido a quantidade de variáveis analisadas simultaneamente e para que fosse possível o entendimento de quais fatores exerceriam influência sobre a atividade enzimática.

As relações entre as propriedades físico-químicas e atividade enzimática foram determinadas pela análise de Correlação de Pearson e os dados utilizados para tal análise referem-se à média dos valores das propriedades físico-químicas e atividade enzimática para cada classe de uso do solo em períodos distintos. As análises estatísticas foram realizadas utilizando o programa científico Statistica 7.1 (StatSoft 2005) e o *software* Microsoft Excel (2010) e os gráficos (Figuras 1 a 6) foram construídos no programa Sigmaplot versão 12.0 (Silva et al. 2009).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

AValiação dos Parâmetros Físico-Químicos do Solo

Tabela 01. Propriedades Físico-Químicas das Amostras de Solos Coletados em Diferentes Tipos de Uso do Solo em Período de Chuva e Seca.

Propriedades Físico-químicas	Cana-de-açúcar					Pasto	Cerrado "ss"*	Mata Mesófila *
	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	Amostra 4	Amostra 5			
pH (CaCl ₂)	5,2	5,0	5,5	4,7	5,3	4,7	4,1	4,9
Umidade %	15	16	12	13	16	7,0	5,0	18,2
Ca mEq/100cm ³	2,4	3,0	3,5	2,6	7,7	3,1	0,7	6,9
Mg mEq/100cm ³	1,0	1,0	1,4	0,5	1,7	1,3	0,3	2,3
K mg/dm ³	101	132	536	833	733	58	81	150
CTC mEq/100cm ³	6,3	7,1	8,2	9,4	10,7	9,4	7,1	24,5
P (Melich)mg/dm ³	23,5	46	6	130	4	0,9	0,8	6,8
Matéria orgânica %	1,8	1,6	1,6	2,7	2,0	3,6	4,7	9,8
C Org. T.%	0,8	1,1	0,6	1,5	1,1	2,2	2,8	5,4
N Total %	0,05	0,1	0,05	0,1	0,1	0,2	0,2	0,2
Sat. Base %	58	93	76	50	89	46	17	63
Sat. Al %	0	0	0	0	0	2,5	32	0
Argila %	41	40	26	37	29	46	46	63

"ss": cerrado sensu stricto; CTC: capacidade de troca catiônica; C Org. Total: carbono orgânico total; Sat. Base: teor de saturação por base; Sat. Al: teor de saturação por alumínio. *amostras utilizadas como controle.

Fonte: Os Autores.

A remoção da vegetação nativa para estabelecimento de pastagem e culturas de cana-de-açúcar promoveu alterações nas propriedades físico-químicas dos solos amostrados (Tabela 1). Os teores de matéria orgânica e carbono orgânico total diminuíram em virtude do uso do solo e as áreas de cultivo

Leciana de M. S. Zago; Rogério N. Oliveira; Anne Kethlen G. Bombonato; Letícia de O. Moreira;
Erik Nelson de P. Melo; Samantha S. Caramori

de cana-de-açúcar apresentaram os menores valores desses atributos em relação às áreas de Cerrado nativo e de pastagem.

Os maiores teores de matéria orgânica e carbono orgânico total encontrados nas áreas nativas estão associadas ao maior aporte de resíduos vegetais presentes na camada superficial do solo. A quantidade mais elevada, assim como a diversidade de substratos está associada a ausência da ação antrópica, o que por sua vez afeta a qualidade do solo (Gazola et al. 2015). Dessa forma, as diferenças encontradas nos teores de matéria orgânica e carbono orgânico em diferentes tipos de uso do solo evidenciam o impacto da ação antrópica sobre tais atributos do solo.

A área de mata mesófila apresentou maior teor de magnésio e maior capacidade de troca catiônica. A área de cana-de-açúcar cultivada com uso de adubos orgânicos e químicos (Amostra 1) apresentou os menores valores de cálcio em relação aos demais cultivos e menor capacidade de troca catiônica (CTC) em comparação com as demais áreas amostradas. As amostras de solo coletadas em área de pastagem apresentaram valores de pH semelhante às áreas de cobertura vegetal nativa.

Diferenças nas propriedades físico-químicas foram identificadas entre os diferentes tipos de tratamentos do solo (Amostra 4 e 5). O solo adubado com vinhaça diluída apresentou maior teor de matéria orgânica e carbono orgânico total. Entretanto, os teores de cálcio, magnésio e CTC foram superiores em áreas adubadas com vinhaça concentrada.

DETERMINAÇÕES DAS ATIVIDADES ENZIMÁTICAS DOS SOLOS

As figuras 4 a 9 apresentam as atividades das hidrolases e oxidorreduções ($\text{U g}^{-1} \text{h}^{-1}$) observadas nas áreas de Cerrado nativo, pasto e amostras de 1 a 5. A análise bioquímica dos solos coletados em áreas com cobertura vegetal nativa de Cerrado e aquelas utilizadas para atividades de agropecuária apresentou diferenças na atividade das enzimas α -glicosidase, β -glicosidase, fosfatase ácida, protease, fenoloxidase e peroxidase (Figuras 4-9).

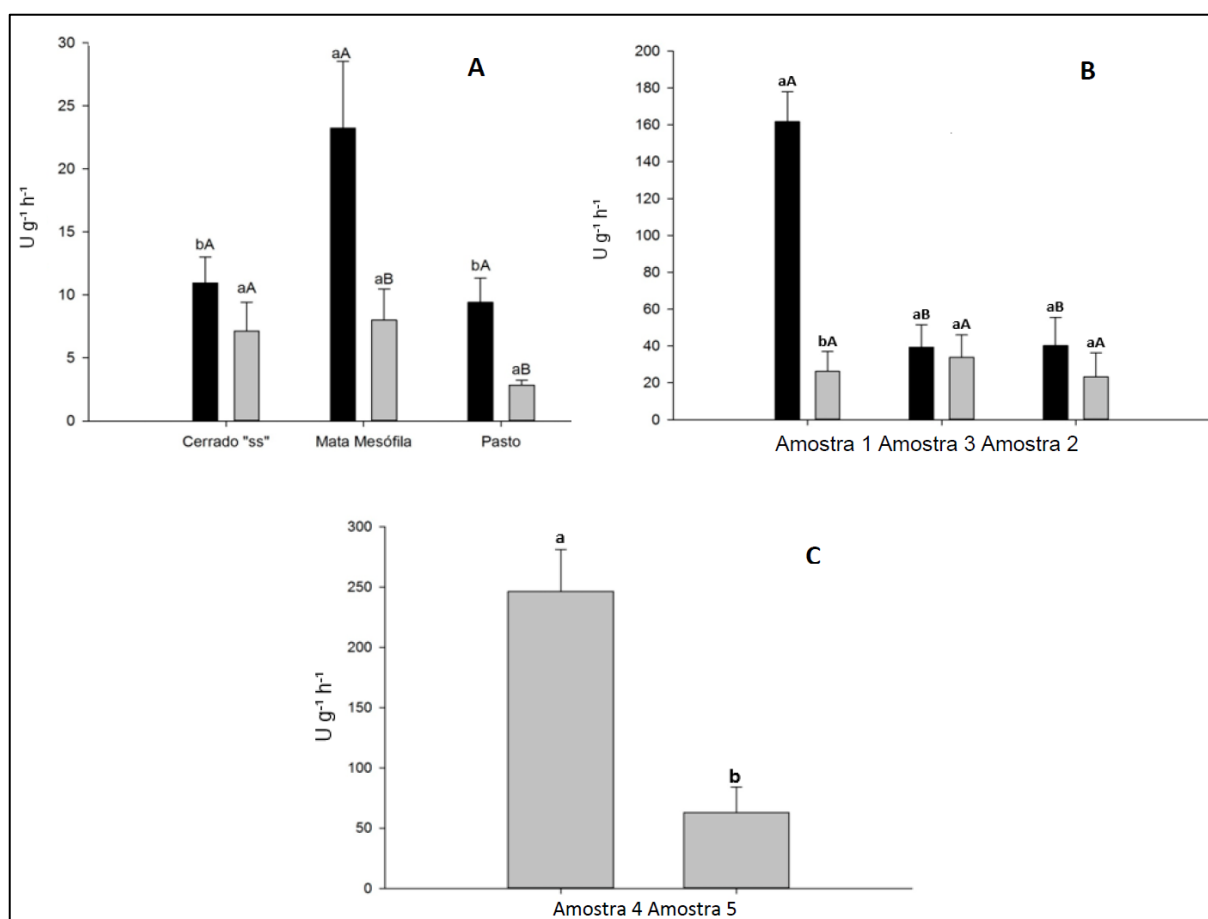
Para a atividade de α -glicosidase foi possível observar variações entre os diferentes tipos de solos analisados. A área de pastagem exibiu menor valor de atividade em relação às áreas preservadas (mata mesófila e Cerrado “ss”) (Figura 4A). Os menores valores de atividade de α -glicosidase foram observados em decorrência do tipo de cobertura vegetal implantada no solo. A pastagem propiciou menor deposição de matéria orgânica em relação a mata mesófila, evidenciando assim a dependência da matéria orgânica para a atividade dessa enzima (Deng & Tabatabai 1997, Moscatelli et al. 2012).

Leciana de M. S. Zago; Rogério N. Oliveira; Anne Kethlen G. Bombonato; Letícia de O. Moreira;
Erik Nelson de P. Melo; Samantha S. Caramori

Portanto, os elevados teores de matéria orgânica apresentados em solo de mata mesófila podem explicar a maior atividade enzimática encontrada nessa área.

Os resultados apontam aumento na atividade enzimática de α -glicosidase em sistema de cultivo orgânico com adição de torta de filtro e adubação química no período chuvoso (Figura 4B). Segundo Barbosa (2010) os sistemas de cultivo orgânico promovem aumento de biomassa microbiana do solo que é responsável pela ciclagem de nutrientes. As variações na atividade de α -glicosidase entre a estação de chuva e seca nos diferentes tipos de uso do solo podem ser explicadas pela influência de condições climáticas sobre o metabolismo de microrganismos, que por sua vez são produtores de enzimas extracelulares. Tais resultados corroboram com os achados de Wittmann et al. (2004) que também observaram um decréscimo da atividade de enzimas no período de seca.

Figura 04. Atividade de α -Glicosidase em Amostras de Solos de Cerrado Nativo e Pastagem.



(A) e em culturas de cana-de-açúcar com adubação orgânica (B) e convencional (C). As colunas escuras representam os dados das amostras coletadas no período chuvoso e as colunas claras representam os dados das amostras coletadas durante a seca

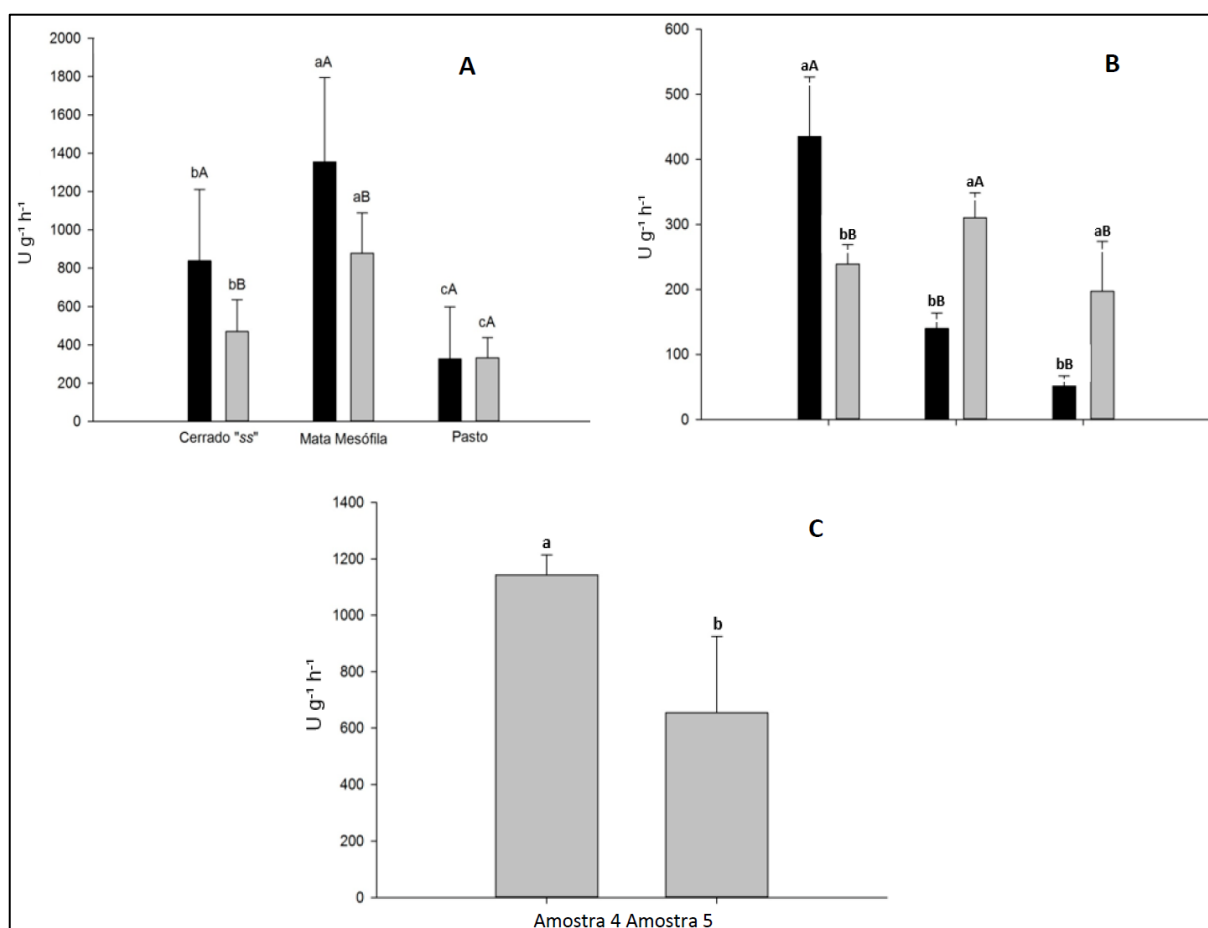
Fonte: Os Autores.

Leciana de M. S. Zago; Rogério N. Oliveira; Anne Kethlen G. Bombonato; Letícia de O. Moreira;
Erik Nelson de P. Melo; Samantha S. Caramori

Em todos os tipos de uso do solo observou-se uma redução na atividade dessa enzima no período da seca. A baixa disponibilidade de água na matriz inorgânica juntamente com a presença de argila e outros cátions, podem formar complexos enzimáticos e limitar o acesso aos substratos. Quando a disponibilidade de água é baixa, a atividade microbiana no solo diminui e como consequência, a síntese de enzimas extracelulares é desacelerada (Boerner et al. 2005, Li et al. 2007).

As amostras de solo coletadas em cultivo de cana-de-açúcar adubada com vinhaça (Amostras 4 e 5) apresentaram variações na atividade enzimática em virtude da concentração desse composto para adubação do solo (Figura 4C). A área adubada com vinhaça concentrada apresentou menor valor de atividade de α -glicosidase (Figura 4C), o que por sua vez pode estar associado ao efeito lixiviador de íons devido à carga excessiva de vinhaça adicionada ao solo (Madejon et al. 2001).

Figura 05. Atividade de β -Glicosidase em Amostras de Solos de Cerrado Nativo e Pastagem.



(A) e em culturas de cana-de-açúcar com adubação orgânica (B) e convencional (C). As colunas escuras representam os dados das amostras coletadas no período chuvoso e as colunas claras representam os dados das amostras coletadas durante a seca

Fonte: Os Autores.

Leciana de M. S. Zago; Rogério N. Oliveira; Anne Kethlen G. Bombonato; Letícia de O. Moreira;
Erik Nelson de P. Melo; Samantha S. Caramori

Ainda em relação à atividade de α -glicosidase, é importante acrescentar que a adição de matéria orgânica exerce influência na produção de hidrolases relacionadas ao ciclo de nutrientes por microrganismos (Moscatelli et al. 2012). A matéria orgânica também protege e mantém as enzimas do solo em suas formas ativas pela interação entre as substâncias húmicas e as moléculas da enzima (Deng & Tabatabai 1997).

A atividade da enzima β -glicosidase apresentou variações entre os diferentes tipos de cobertura vegetal presente no solo (Figura 5). De modo semelhante à enzima α -glicosidase, a atividade de β -glicosidase foi maior no período chuvoso e em áreas que apresentam vegetação nativa de Cerrado (Figura 5). O elevado teor de matéria orgânica apresentado em solos de Mata Mesófila explica a maior atividade enzimática encontrada nesta área, fato semelhante também observado por Stott et al. (2010).

As variações na atividade da β -glicosidase nos cerrado “ss” e na mata mesófila no período de chuva e seca podem ser explicadas pela influência das condições climáticas sobre o metabolismo dos organismos vivos, assim como ocorre para a α -glicosidase. Alterações nas condições climáticas podem interferir na produção e atividade de enzimas extracelulares. Pião, Hong e Yuan (2000) afirmam que na estação seca parte da biomassa morre e, com a retomada das chuvas e aumento da umidade do solo, a biomassa sobrevivente utiliza a matéria orgânica acumulada no período, conferindo, dessa forma, maior atividade microbiana durante o período chuvoso. Segundo alguns pesquisadores (Bandick & Dick 1999, Bopiah & Shetti 1991, Orchard & Cook 1983), temperaturas mais baixas, maior teor de umidade e matéria orgânica propiciam melhores condições para a atividade microbiana e consequentemente a ciclagem de nutrientes em áreas florestais.

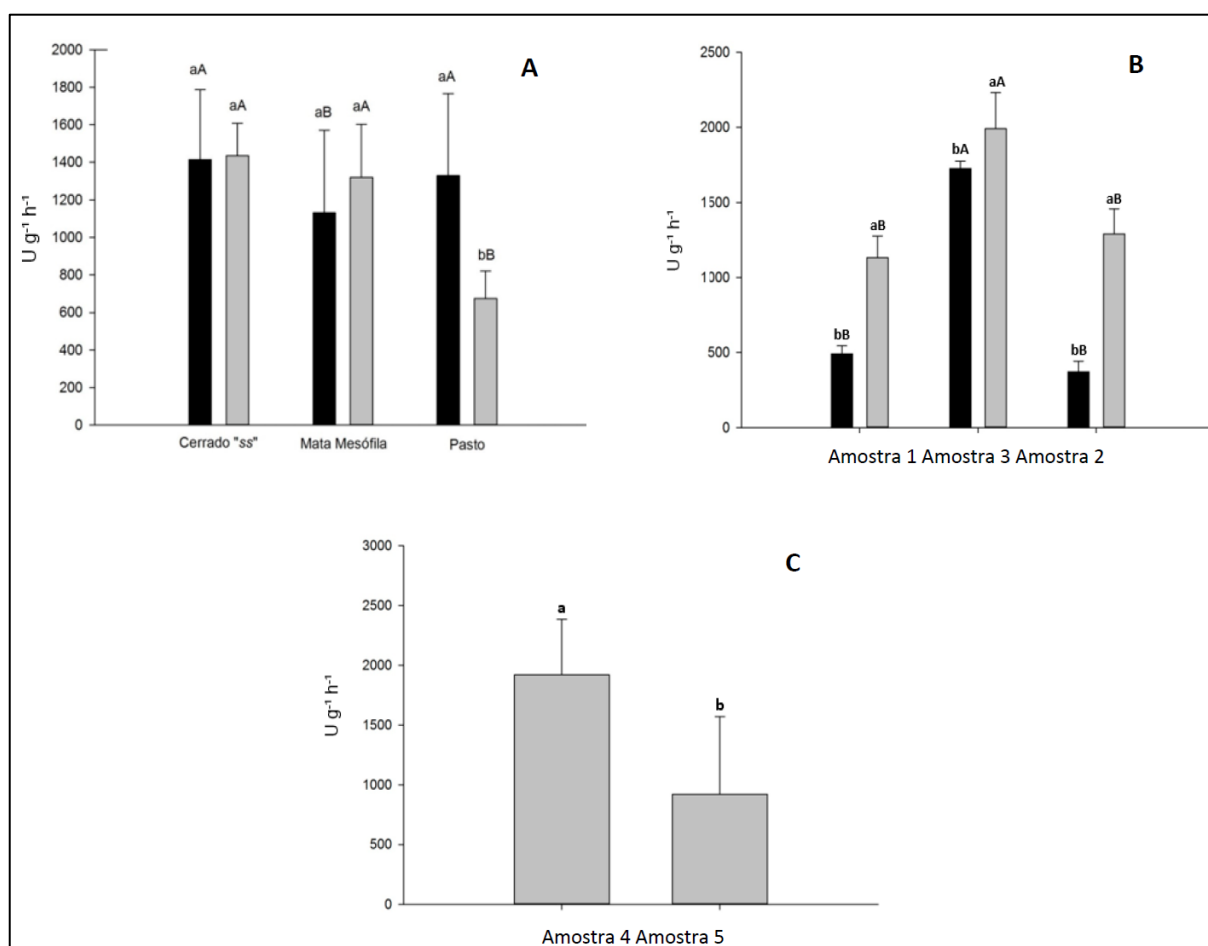
O tipo de adubação usada no cultivo de cana-de-açúcar e período de coleta do solo também exerceram influência na atividade enzimática de β -glicosidase (Figura 5B). As áreas de cultivo de cana-de-açúcar que receberam torta de filtro e adubos químicos (Amostra 1) para adubação do solo apresentaram maior atividade enzimática. A remoção da cobertura vegetal nativa altera a dinâmica de ciclagem de nutrientes no solo. A adubação é realizada com a finalidade de repor nutrientes assimilados pela vegetação agrícola, principalmente as monoculturas. A adição conjunta de torta de filtro e nutrientes na forma inorgânica provavelmente aumentaram o aporte de substratos utilizados pela enzima β -glicosidase. Segundo Moscatelli et al. (2012), sistemas de uso de terra que propiciam maior diversidade e quantidade de resíduos orgânicos favorecem o desenvolvimento dos microrganismos e promovem aumento da atividade enzimática.

Leciana de M. S. Zago; Rogério N. Oliveira; Anne Kethlen G. Bombonato; Letícia de O. Moreira;
Erik Nelson de P. Melo; Samantha S. Caramori

Nas áreas amostradas foi possível identificar a correlação negativa entre o teor de argila no solo e a atividade enzimática, o que por sua vez, pode explicar a baixa atividade de β -glicosidase em áreas de pastagem, visto as características químicas desse solo (Tabela 1). De acordo com Yun et al. (2004) e Rao et al. (2000), a imobilização de enzimas por adsorção em solos argilosos pode afetar os sítios catalíticos e resultar na diminuição da atividade enzimática.

De acordo com achados de Silva et al. (2012), no presente estudo verificou-se a relação entre o teor de matéria orgânica e teor de carbono orgânico do solo, que por sua vez pode explicar os valores mais elevados de atividade dessa enzima em solos com cobertura vegetal nativa. A adição de matéria orgânica exerce influência na produção de hidrolises relacionadas ao ciclo de nutrientes por microrganismos (Moscatelli et al. 2012).

Figura 06. Atividade de Fosfatase Ácida em Amostras de Solos de Cerrado Nativo e Pastagem.



(A) e em culturas de cana-de-açúcar com adubação orgânica (B) e convencional (C). As colunas escuras representam os dados das amostras coletadas no período chuvoso e as colunas claras representam os dados das amostras coletadas durante a seca.

Fonte: Os Autores.

Leciana de M. S. Zago; Rogério N. Oliveira; Anne Kethlen G. Bombonato; Letícia de O. Moreira;
Erik Nelson de P. Melo; Samantha S. Caramori

A vinhaça é também empregada como fertilizante em cultivares de cana-de-açúcar. Quando comparadas as duas áreas de cultivo de cana de açúcar adubadas com diferentes concentrações de vinhaça (Amostra 4 e 5) observou-se que a atividade de β -glicosidase foi mais elevada quando no solo foi adubado com vinhaça diluída (Figura 5C), assim como ocorreu com a atividade de α -glicosidase. A vinhaça é um resíduo orgânico que aumenta a taxa de respiração do solo em consequência do aumento da atividade de decomposição da matéria orgânica no solo. Entretanto, a dosagem utilizada para adubação do solo, se realizada em excesso, pode exercer influência sobre a comunidade microbiana e inibir a atividade enzimática em solos (Tejada et al. 2007, Tejada et al. 2008, Aguiar Filho, 2008).

Diferentemente das glicosidases, a atividade de fosfatase ácida foi mais elevada em área de cultivo de cana-de-açúcar sob cultivo orgânico (Figura 6B). Os sistemas de cultivo orgânico preconizam a deposição de matéria orgânica e dessa forma viabilizam maior quantidade de substratos, estimulando a atividade microbiana e ciclagem de nutrientes (Deng & Tabatabai 1997). Os valores mais baixos encontrados nas demais áreas podem ser explicados pelo teor de fósforo existente no solo (Tabela 1), pois a menor atividade de fosfatase ácida está relacionada com teores mais elevados de fosfato inorgânico no solo (Gatiboni et al. 2008). A correlação negativa entre os níveis de fósforo e atividade enzimática encontradas no presente estudo corroboram com os achados de Speir & Ross (1978) e Allison et al. (2007) e demonstram que a produção de fosfatase é controlada pela demanda biológica e a atividade enzimática tende a ser menor quando o fosfato inorgânico é mais abundante. Ademais, o fósforo existente na torta de filtro consiste em resíduo orgânico e sua liberação ocorre gradativamente via ação enzimática (Santos et al. 2011) e que também pode relacionar-se com os resultados deste estudo.

Os solos coletados em áreas de cultura de cana-de-açúcar no período seco apresentaram perfil de atividade enzimática distinta em diferentes períodos do ano e, assim como em áreas de vegetação nativa, foram mais elevadas no período seco. Somente áreas de pastagem apresentaram atividade enzimática mais elevada no período chuvoso (Figura 6). Esse fato pode ser explicado pelas mudanças microclimáticas que proporcionam variações na temperatura e em propriedades químicas do solo e dessa forma influenciam a decomposição da matéria orgânica (Sinsabaugh et al. 1993).

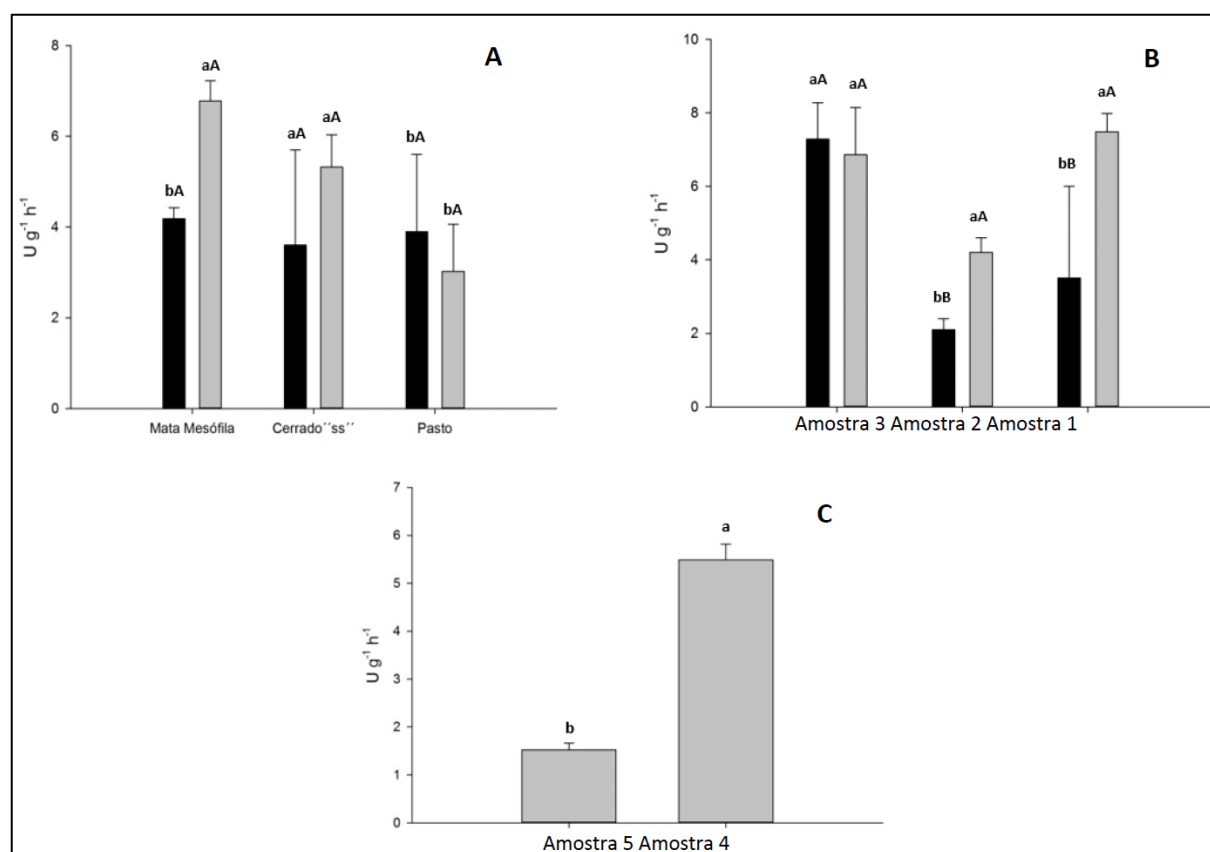
No que tange a culturas de cana-de-açúcar adubadas com vinhaça, verificou-se que atividade de fosfatase ácida é mais elevada em áreas adubadas com menores concentrações de vinhaça (Figura 6C). Embora a vinhaça seja rica em compostos orgânicos e propicie condições favoráveis ao ciclo vegetativo da cana de açúcar, a aplicação excessiva desse composto ocasiona lixiviação de nutrientes, o

Leciana de M. S. Zago; Rogério N. Oliveira; Anne Kethlen G. Bombonato; Letícia de O. Moreira;
Erik Nelson de P. Melo; Samantha S. Caramori

que consequentemente pode afetar negativamente a ação de enzimas extracelulares (Madejon et al. 2001)

A enzima protease mostrou-se sensível ao tipo de manejo, tipo de cultura implantada no solo e sazonalidade (Figura 7). Os maiores valores de atividade de protease foram encontrados em áreas de mata mesófila e área de cana-de-açúcar sob cultivo orgânico adubado com torta de filtro e vinhaça diluída (Figura 7A, B). A associação entre estes dois compostos para adubação do solo pode ter contribuído para o aumento da atividade enzimática devido ao acréscimo de matéria orgânica rica em compostos nitrogenados utilizados como substratos para ação de tal enzima (Cameron 1999, Farrell et al. 2014). Tal fato propicia melhores condições bioquímicas, aumentando assim a ciclagem de nutrientes e absorção dos mesmos pela microbiota e plantas.

Figura 07. Atividade de Protease em Amostras de Solos de Cerrado Nativo e Pastagem.



(A) e em culturas de cana-de-açúcar com adubação orgânica (B) e convencional (C). As colunas escuras representam os dados das amostras coletadas no período chuvoso e as colunas claras representam os dados das amostras coletadas durante a seca.

Fonte: Os Autores.

Os menores valores de atividade de protease em períodos de seca em área de plantio de cana-de-açúcar adubada quimicamente pode ser explicada pelo fato de que a água da chuva contribuiu para a

Leciana de M. S. Zago; Rogério N. Oliveira; Anne Kethlen G. Bombonato; Letícia de O. Moreira;
Erik Nelson de P. Melo; Samantha S. Caramori

lixiviação de compostos presentes em adubos químicos e na matéria orgânica. A relação identificada entre a enzima protease e o teor de matéria orgânica e a relação entre protease e teor de nitrogênio ($p < 0,05$) reafirmam a hipótese de que o decréscimo de matéria orgânica e substratos proteicos ocasionam redução na ação dessa enzima, visto que a ação dessas enzimas extracelulares está limitada a esse tipo de substrato. A proteases são responsáveis pela degradação de substratos proteicos e liberação de formas inorgânicas e viabilizam a absorção de compostos pelos vegetais. Tais compostos são fundamentais para o crescimento de culturas de cana-de-açúcar pois exercem função estrutural, além de participar de processos fisiológicos vitais para a planta (Malavolta 2008). Dessa forma, a carência de nitrogênio na forma inorgânica no solo pode acarretar prejuízos a produtividade, visto que as folhas do vegetal apresentam-se com coloração verde-pálida ou amarelada (Argenta et al. 2002).

A diferença na atividade de protease encontrada entre as duas áreas de vegetação nativa (mata mesófila e cerrado “ss”) pode ser explicada pela análise físico-química dos solos (Tabela 1). A área de vegetação mais densa (mata mesófila) apresentou maior teor de matéria orgânica e carbono orgânico total em relação ao cerrado “ss”, o que por sua vez é determinante para ação de proteases. Outros fatores que interferem na atividade enzimática (teor de umidade, teor de macronutrientes e saturação por bases) se apresentaram em níveis mais elevados, refletindo assim a qualidade dos solos de ecossistemas naturais do tipo mata mesófila.

A redução da atividade de protease em áreas de cana-de-açúcar adubadas com vinhaça concentrada pode ser observada na Figura 7C. Apesar de ser um composto rico em matéria orgânica, cálcio, magnésio, potássio e nitrogênio, a vinhaça em excesso promove desequilíbrio de nutrientes, prejudica a qualidade da matéria orgânica e causa a salinização do solo (Christofolletti et al. 2013).

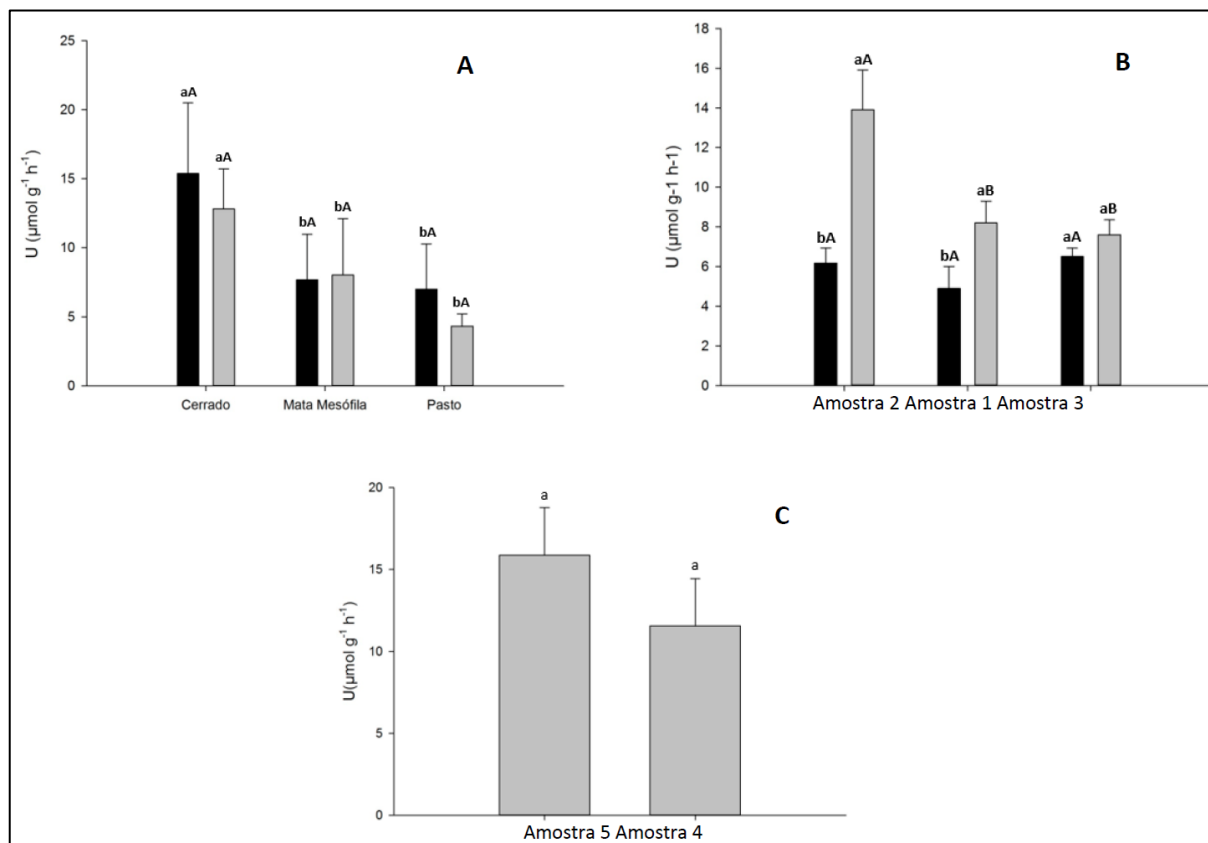
Para a enzima peroxidase foi observado que a área de Cerrado *sensu stricto* apresentou níveis de atividade enzimática mais elevados em relação as áreas de cultivo agrícola de cana-de-açúcar e pastagem durante todo o ano (Figura 8A, B). A atividade elevada de peroxidase em solos de ecossistemas naturais pode estar associada a fatores físico-químicos que propiciam a formação de espécies reativas de fenóis (Sinsabaugh 2010) e/ou a presença de indutores de expressão gênica, ligados ao estresse oxidativo (Rabinovich et al. 2004) e/ou a presença de ativadores enzimáticos, como o alumínio, que foi evidenciado como cofator ou ativador enzimático (Kouakou et al. 2008).

A atividade de peroxidase foi maior na área de adubação com vinhaça diluída do que nas áreas em que foi adicionada a vinhaça concentrada, semelhantemente ao que ocorreu com as hidrolases. (Figura 8C). Christofolletti et al. (2013) constataram que o uso da vinhaça em alta concentração

Leciana de M. S. Zago; Rogério N. Oliveira; Anne Kethlen G. Bombonato; Letícia de O. Moreira;
Erik Nelson de P. Melo; Samantha S. Caramori

contribui para a salinidade do solo e, segundo Araújo et al. (2008), a atividade dessa enzima aumenta sob situações de estresse provocadas por formas de manejo, salinidade do solo, umidade e pH.

Figura 08. Atividade de Peroxidase em Amostras de Solos de Cerrado Nativo e Pastagem.



(A) e em culturas de cana-de-açúcar com adubação orgânica (B) e convencional (C). As colunas escuras representam os dados das amostras coletadas no período chuvoso e as colunas claras representam os dados das amostras coletadas durante a seca.

Fonte: Os Autores.

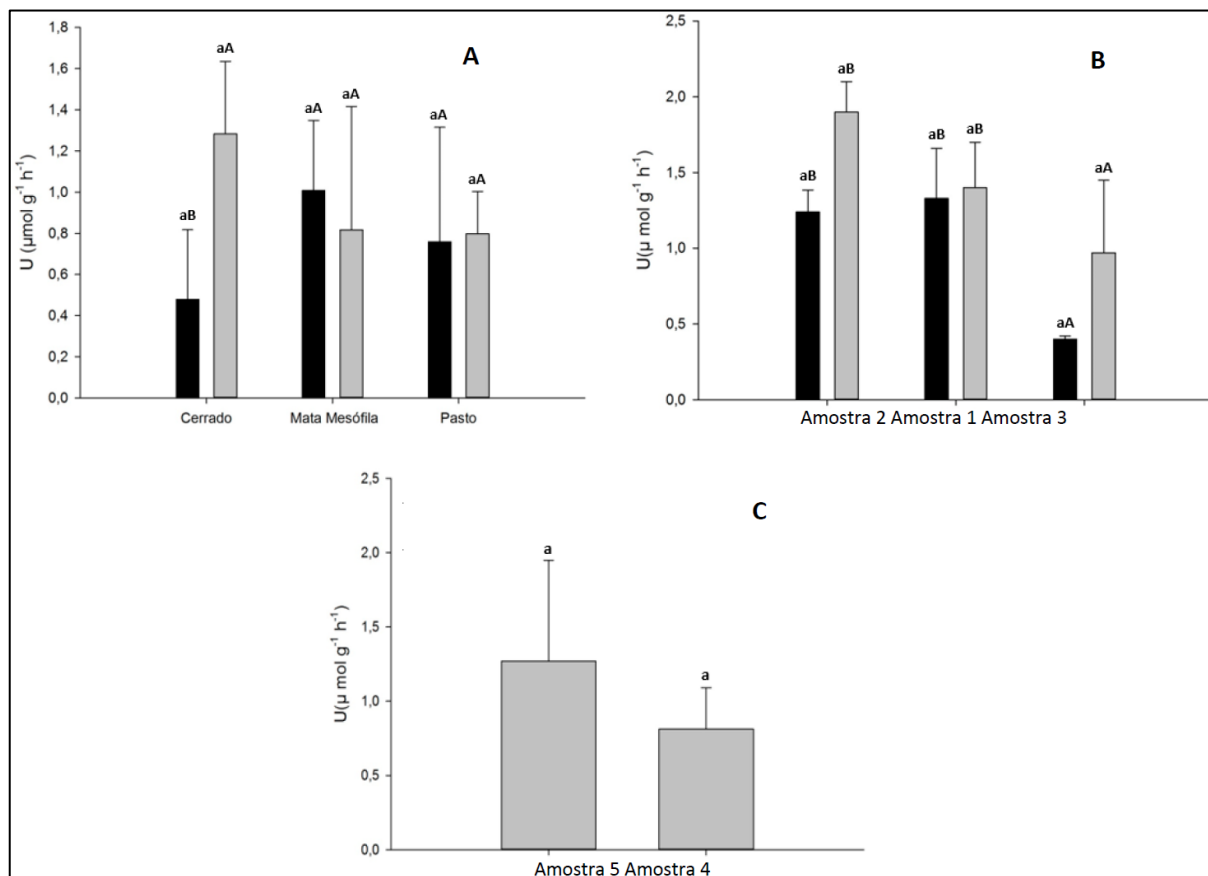
A atividade de peroxidase foi mais elevada no período seco e em áreas de cana-de-açúcar que receberam adubos químicos no processo de fertilização do solo (Figura 8B). Entretanto, a sazonalidade não é um fator que interfere na atividade de peroxidase, visto as pequenas variações encontradas ao longo do ano, o que por sua vez já foi evidenciado em outros estudos de avaliação de qualidade do solo (Boerner et al. 2005, Kellner et al. 2008). A enzima peroxidase desempenha papel fundamental na etapa inicial de degradação de lignina presente na matéria orgânica depositada ao longo da estação seca. Dessa forma, a ação da enzima peroxidase também exerce influência sobre a ação de enzimas hidrolases como a β -glicosidase (Sinsabaugh 2010).

A relação entre a enzima peroxidase e o teor de alumínio foi identificada e pode ser explicada pelo fato de que estas enzimas participam de respostas oxidativas a altas concentrações de alumínio.

Leciana de M. S. Zago; Rogério N. Oliveira; Anne Kethlen G. Bombonato; Letícia de O. Moreira;
Erik Nelson de P. Melo; Samantha S. Caramori

Em um estudo de caracterização de peroxidases, Kouakou et al. (2009), constataram que a presença do íon Al^{3+} é responsável por aumentos acentuados na atividade de peroxidase, sugerindo que esse íon atue como cofator ou ativador enzimático.

Figura 09. Atividade de Polifenoloxidase em Amostras de Solos de Cerrado Nativo e Pastagem.



(A) e em culturas de cana-de-açúcar com adubação orgânica (B) e convencional (C).

Fonte: Os Autores.

A área de cana-de-açúcar adubada com adubos químicos (Amostra 2) apresentou atividade de fenoloxidase mais elevada no período de seca em relação aos demais solos avaliados (Figura 9A, B). Por outro lado, no período chuvoso o maior valor de atividade dessa enzima foi observada em áreas adubadas com torta de filtro e adubo químico (Amostra 1). Este resultado pode estar relacionado com o aumento no teor de nitrogênio proveniente da adubação química, uma vez que esse padrão de atividade foi constatado por Fog (1988) e Sinsabaugh (2010) em estudos de avaliação da atividade enzimática de fenoloxidase. Ademais, os resultados corroboram com estudos realizados por Boerner & Brinkman (2003) e Fenner et al. (2005), que observaram os efeitos de altas temperaturas em solos e concluíram que a atividade de fenoloxidase é mais elevada na estação seca.

Leciana de M. S. Zago; Rogério N. Oliveira; Anne Kethlen G. Bombonato; Letícia de O. Moreira;
Erik Nelson de P. Melo; Samantha S. Caramori

A enzima fenoloxidase apresentou variações na atividade enzimática entre áreas de cana-de-açúcar que receberam diferentes concentrações de adubos (Figura 9). A fenoloxidase apresentou padrão distinto do observado na análise de atividade enzimática de hidrolases e peroxidases, pois apresentou maiores valores de atividade enzimática nas amostras da área adubada com vinhaça concentrada (Amostra 5) em relação a área adubada com vinhaça diluída (Amostra 4). Esse fato pode ser explicado pela qualidade do complexo da matéria orgânica que pode ter sido alterado no solo adubado com vinhaça concentrada (Tabela 1) e que pode influenciar o aumento da atividade de fenoloxidase (Boerner & Brinkman 2003). Fog (1988) observou que a adição de compostos nitrogenados, tais como N inorgânico ou fontes de N orgânico reduzem a degradação da matéria orgânica recalcitrante, altera a composição da comunidade fúngica do solo, o que por sua vez reduz a disponibilidade de C lábil e aumenta a atividade de fenoloxidase.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados demonstram que a substituição da vegetação nativa por ecossistemas agropecuários altera a qualidade química e bioquímica do solo. Os solos preservados apresentaram melhores condições químicas, o que por sua vez refletiram em melhorias da atividade enzimática de hidrolases e peroxidases, demonstrando a relação entre os diferentes atributos do solo.

Os resultados sugerem que a adubação orgânica com a associação de vinhaça e torta de filtro contribui para o aumento da atividade enzimática e diferentes concentrações de vinhaça utilizada para adubação dos solos cultivados com cana-de-açúcar influenciam a atividade bioquímica em solos de Cerrado. Por outro lado, pode-se inferir que altas concentrações de vinhaça no solo influenciam negativamente a atividade de hidrolases e ciclagem de nutrientes no solo.

A atividade de glicosidases (α e β -glicosidase) no solo está relacionada às propriedades químicas, como a matéria orgânica e carbono orgânico total, enquanto a atividade de oxidorreduções, como peroxidases e fenoloxidases relacionam-se com o estado de estresse oxidativo no solo. Dessa forma, a análise conjunta de parâmetros químicos e atividade enzimática de hidrolases e oxirredutases podem refletir o estado de qualidade dos solos de Cerrado e assim indicar o grau de toxidade do ambiente e qualidade ambiental.

É possível concluir que hidrolases e oxidorreduções são sensíveis a variações ocasionadas em decorrência dos ciclos de chuva e seca, da remoção da vegetação e implantação de sistemas agropecuários, e portanto podem ser utilizadas como indicadores de qualidade dos solos de Cerrado.

Leciana de M. S. Zago; Rogério N. Oliveira; Anne Kethlen G. Bombonato; Letícia de O. Moreira;
Erik Nelson de P. Melo; Samantha S. Caramori

AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo financiamento via processo 473065/2011-8 e ao Programa de Incentivo à Pesquisa (PROBIP/UEG). E.N.P. Melo agradece à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de mestrado e L.M.S. Zago agradece à Universidade Estadual de Goiás pela bolsa de doutorado.

REFERÊNCIAS

- Aguiar Filho JMM 2008. *Análise enzimática de fungos lignocelulolíticos cultivados em vinhaça e bagaço de cana-de-açúcar*, Dissertação de Mestrado, Universidade de São Paulo. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, 79 pp.
- Albuquerque MCC, Ribeiro CMS, Rabelo CRK, Siqueira BG, Marinha ABAS, Castro AM 2014. Applications of enzymes in synthesis and modification of polymers. *Química Nova* 37:699-708.
- Allison SD, Vitousek PM 2005. Responses of extracellular enzymes to simple and complex nutrient inputs. *Soil Biology & Biochemistry* 37: 937–944.
- Allison VJ, Condron LM, Peltzer DA, Richardson SJ, Turner BL 2007. Changes in enzyme activities and soil microbial community composition along carbon and nutrient gradients at the Franz Josef chronosequence. *Soil Biology & Biochemistry* 39(7): 1770-1781.
- Araújo ASF, Monteiro RTR 2007. Indicadores biológicos de qualidade do solo. *Bioscience Journal* 23:66-75.
- Araújo GRJ, Broetto F, Salibe AA, Feichtenberger E 2008. Alteração na atividade de peroxidase e concentração de fenóis em microtangerinas (*Citrus* spp.) infectadas por *Phytophthora* parasítica. *Revista Brasileira de Biociências* 6:1-5.
- Argenta G, Silva PRF, Mielnicul J, Bortolini CG 2002. Parâmetros de planta como indicadores do nível de nitrogênio na cultura do milho. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 37: 519-527.
- Asmar F, Eiland F, Nielsen NE 1992. Interrelationship between extracellular enzyme activity, ATP content, total counts of bacteria and CO₂ evolution. *Biology and Fertility of Soils* 14:288-292.
- Babujia LC, Hungria M, Franchini JC, Brookes PC 2010. Microbial biomass and activity at various soil depths in a Brazilian oxisol after two decades of no-tillage and conventional tillage. *Soil Biology & Biochemistry* 42:2174-2181.
- Baldrian P, Valáskova V, Merhautová V, Gabriel J 2005. Degradation of lignocellulose by *Pleurotus ostreatus* in the presence of copper, manganese lead and zinc. *Research Microbiology* 156(6): 670-676.
- Bandick AK, Dick RP 1999. Field management effects on soil enzymes activities. *Soil Biology & Biochemistry* 31:1471-1479.
- Barbosa LA 2010. *Impactos de sistema de cultivo orgânico e convencional da cana-de-açúcar nos atributos do solo*. Dissertação de Mestrado, Universidade de Brasília, Brasília, 80pp.

Leciana de M. S. Zago; Rogério N. Oliveira; Anne Kethlen G. Bombonato; Letícia de O. Moreira;
Erik Nelson de P. Melo; Samantha S. Caramori

Boerner REJ, Brinkman JA 2003. Fire frequency and soil enzyme activity in southern Ohio oak-hickory forests. *Applied Soil Ecology* 23:137-146.

Boerner REJ, Brinkman JA, Smith A 2005. Seasonal variations in enzyme activity and organic carbon in soil of a burned and unburned hardwood forest. *Soil Biology & Biochemistry* 37(8):1419-1426.

Bopaiiah BM, Shetti HS 1991. Soil microflora and biological activities in the rhizospheres and root regions of coconut-based multistoreyed cropping and coconut monocropping systems. *Soil Biology & Biochemistry* 17: 297-302.

Brenda: *The Comprehensive Enzyme Information System* 2014. Department of Bioinformatics and Biochemistry, Technische Universität Braunschweig. Disponível em <<http://www.brenda-enzymes.org/>>. Acesso em: 21.05.2016.

Cameron MD 1999. Field study of gross rates of N mineralization and nitrification and their relationships to microbial biomass and enzyme activities in soils treated with dairy effluent and ammonium fertilizer. *Soil Use Management* 15:188-194.

Carneiro MAC, Souza EDS, Reis EF, Pereira HS, Azevedo WR 2009. Atributos físicos, químicos e biológicos de solo de Cerrado sob diferentes sistemas de uso e manejo. *Revista Brasileira de Ciência do Solo* 33(1):147-157.

Companhia Nacional de Abastecimento 2014. Acompanhamento da safra brasileira cana-de-açúcar: Safra 2014/15. *Primeiro Levantamento* 1(1):1-20.

Christofoletti AC, Escher PJ, Correia EJ, Marinho UFJ, Fontanetti SC 2013. Sugarcane vinasse: Environmental implications of its use. *Waste Management* 33:2752-2761.

Deng SP, Tabatabai MA 1997. Effect of tillage and residue management on enzyme activities in soils. *Biology and Fertility of Soils* 24(2):141-146.

EMBRAPA (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária) 1997. *Manual de análises de solo*. 2 ed. rev. e ampl. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Rio de Janeiro, 212 pp.

Farrell M, Miller PM, Jones LD, Hill WP, Condron ML 2014. Soil microbial organic nitrogen uptake is regulated by carbon availability. *Soil Biology & Biochemistry* 77:261-267.

Fenner N, Freeman C, Reynolds B 2005. Hydrological effects on the diversity of phenolic degrading bacteria in a peatland: implications for carbon cycling. *Soil Biology & Biochemistry* 37:1277-1287.

Fog K 1988. The effect of added nitrogen on the rate of decomposition of organic matter. *Biological Reviews* 63:433-462, 1988.

Gatiboni LC, Kaminski J, Rheinheimer DS, Brunetto G. 2008. Fósforo da biomassa microbiana e atividade de fosfatases ácidas durante a diminuição do fósforo disponível no solo. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 43(8):1085-1091.

Gazola PR, Guareschi RF, Perin A, Pereira MG, Rossi CQ 2015. Fractions of soil organic matter under pasture, tillage system and crop-livestock integration. *Semina: Ciências Agrárias* 36(2):693-704.

Leciana de M. S. Zago; Rogério N. Oliveira; Anne Kethlen G. Bombonato; Letícia de O. Moreira;
Erik Nelson de P. Melo; Samantha S. Caramori

- Geisseler D, Horwath RW 2008. Regulation of extracellular protease activity in soil in response to different sources and concentrations of nitrogen and carbon. *Soil Biology & Biochemistry* 40:3040-3048.
- Gouvêa JRF, Sentelhas PC, Gazzola ST, Santos MC 2009. Climate changes and technological advances: impacts on sugarcane productivity in tropical southern Brazil. *Scientia Agricola* 66(5):593-605.
- Kalisz HM 1998. Microbial proteinase. *Advances in Biochemical Engineering Biotechnology* 36:1-65.
- Kedi B, Sei J, Quiquampoix H, Staunton A 2012. Persistence of catalytic activity of fungal phosphatases incubated in tropical soils. *Soil Biology and Biochemistry* 56:69-74.
- Kellner H, Luis P, Zimdars B, Kiesel B, Busco F 2008. Diversity of bacterial laccase-like multicopper oxidase genes in forest and grassland Cambisol soil samples. *Soil Biology & Biochemistry* 40(3):638-648.
- Kouakou TH, Due EA, Kouadio NE, Niamke S, Kouadio YJ, Merillon JM 2008. Purification and characterization of cell suspensions peroxidase from cotton (*Gossypium hirsutum* L.). *Applied Microbiology Biotechnology*, 157(3):575-592.
- Kumar CG, Takagi H 1999. Microbial alkaline proteases: from a bioindustrial view point. *Biotechnology Advances* 17:561-594.
- Ladeira SA, Andrade VVM, Delatorre AB, Perez VH, Martins MLL 2010. Utilização de resíduos agroindustriais para a produção de proteases pelo termofílico *Bacillus* sp em fermentação submersa: otimização do meio de cultura usando a técnica de planejamento experimental. *Química Nova* 33(2):324-328.
- Leite RCC, Leal MRLV 2007. O biocombustível no Brasil. *Novos Estudos* 78:15-21.
- Li Y, Rouland C, Benedetti M, Li F, Pando A, Lavelle P, Dai J 2009. Microbial biomass, enzyme and mineralization activity in relation to soil organic C, N and P turnover influenced by acid metal stress. *Soil Biology and Biochemistry* 41:969-977.
- Li ZP, Wu XC, Chen BY 2007. Changes in Transformation of Soil Organic C and Functional Diversity of Soil Microbial Community under Different Land Uses. *Agricultural Sciences in China* 6:1235-1245.
- Lima SLT, Jesus MB, Sousa RRR, Okamoto AK, Lima R, Fraceto LF 2008. Estudo da atividade proteolítica de enzimas presentes em frutos. *Química Nova Escola* 28:47-49.
- Madejon E, Lopez R, Murillo JM, Cabrera F 2001. Agricultural use of three (sugar-beet) vinasse composts: effect on crops and chemical properties of a Cambisol soil in the Guadalquivir river valley (SW Spain). *Agriculture, Ecosystems & Environment* 84(1):53-65.
- Malavolta E 2008. O futuro da nutrição de plantas tendo em vista aspectos agrônômicos, econômico e ambientais. *International Plant Nutrition Institute* 121:1-10.
- Martínez VA, Cruz L, Ramírez DS, Alegría VA 2007. Enzyme activities as affected by soil properties and land use in a tropical watershed. *Applied Soil Ecology* 35:35-45.
- Matsuoka M 2006. *Atributos biológicos de solos cultivados com videira na região da Serra Gaúcha*. Tese (Doutorado) Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 173pp.

Leciana de M. S. Zago; Rogério N. Oliveira; Anne Kethlen G. Bombonato; Letícia de O. Moreira;
Erik Nelson de P. Melo; Samantha S. Caramori

Moscatelli MC, Lagomarsino A, Garzillo AMV, Pignataro A, Grego S 2012. β -Glucosidase kinetic parameters as indicators of soil quality under conventional and organic cropping systems applying two analytical approaches. *Ecological Indicators* 13(1):322-327.

Orchard V, Cook FJ 1983. Relationship between soil respiration and soil moisture. *Soil Biology and Biochemistry* 15:447-453.

Passos SR, Junior FBR, Rumjanek NG, Mendes IC, Baptista MJ, Xavier GR 2008. Atividade enzimática e perfil da comunidade bacteriana em solo submetido à solarização e biofumigação. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 43(7):879-885.

Pião HC, Hong YT, Yuan ZY 2000. Seasonal changes of microbial biomass carbon related to climatic factors in soils from Karst areas of southwest China. *Biology and Fertility of Soils* 30:294-297.

Rao MA, Violante A, Gianfreda L 2000. Interaction of acid phosphatase with clays, organic molecules and organo-mineral complexes: kinetics and stability. *Soil Biology and Biochemistry* 32:1007-1014.

Santos DH, Silva MA, Tiritan MA, Foloni JSS, Eche FR 2011. Qualidade tecnológica da cana-de-açúcar sob adubação com torta de filtro enriquecida com fosfato solúvel. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental* 15:443-449.

Silva CF, Pereira MG, Miguel DL, Feitoria JCF, Loss A, Menezes CEG, Silva EMR 2012. Carbono orgânico total, biomassa microbiana e atividade enzimática do solo de áreas agrícolas, florestais e pastagem no médio Vale do Paraíba do Sul (RJ). *Revista Brasileira de Ciência do Solo* 36(6):1680-1689.

Silva SAF 2009. *The ASSISTAT software: statistical assistance*. Departamento de Engenharia Agrícola, Universidade Federal de Campina Grande, Paraíba.

Silveira AO 2007. *Atividade enzimática como indicadores biológicos da qualidade de solos agrícolas do Rio Grande do Sul*, Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 94 p.

Sinsabaugh RL 2010. Phenol oxidase, peroxidase and organic matter dynamics of soil. *Soil Biology & Biochemistry* 42(3):391-404.

Sinsabaugh RL, Antibus RK, Linkins AE, Mcclaugherty CA, Rayburn L, Rebertus D, Weiland T 1993. Wood decomposition: nitrogen and phosphorus dynamics in relation to extracellular enzyme activity. *Ecology* 74:1586-1593.

Sinsabaugh RL, Klug MJ, Collins HP, Yeager PE, Petersen SO 1999. Characterizing soil microbial communities. In Robertson GP, Coleman DC, Bledsoe CS, Sollins P, *Standard Soil Methods for Long-Term Ecological Research Long-term ecological research*. New York, Oxford University Press, p. 318-348.

Souza AM, Prado RM, Paixão ACS, Cesarin LG 2005. Sistemas de colheitas e manejo da palhada de cana-de-açúcar. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 40:271-278.

Speir TW, Ross DJ 1978. Soil phosphatase and sulphatase. In Burns RG, *Soil Enzymes*, Academic Press, New York, p. 197-245.

Statsoft 2005. *Statistica* (data analysis software system), version 7.1. www.statsoft.com.

Leciana de M. S. Zago; Rogério N. Oliveira; Anne Kethlen G. Bombonato; Letícia de O. Moreira;
Erik Nelson de P. Melo; Samantha S. Caramori

Stott DE, Andrews SS, Liebig MA, Wienhold BJ, Karlen DL 2010. Evaluation of β -glucosidase activity as a soil quality indicator for the soil management assessment framework. *Soil Biology and Biochemistry*, 74(1):107-119.

Tabatabai A 1994. Soil enzyme. In Waver RW, Angle JS, Bottomley PS, *Methods of Soil Analyses: Microbiological and Biochemical Properties*, Madison, USA, p. 775-833.

Tejada M, Gonzales JL, García-Martínez AM, Parrado J 2008. Application of green manure and green manure composted with beet vinasse on soil restoration: effects on soil properties. *Bioresource Technology* 99(11):4949-4957.

Tejada M, Moreno JL, Hernandez MT, Garcia C 2007. Application of two beet vinasse forms in soil restoration: Effects on soil properties in an arid environment in southern Spain. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 119(4):289-298.

Wittmann C, Kähkönen MA, Ilvesniemi H, Kurola J, Salkinojasalonen MS 2004. Areal activities and stratification of hydrolytic enzymes involved in the biochemical cycles of carbon, nitrogen, sulphur and phosphorus in podsolized boreal forest soils. *Soil Biology & Biochemistry* 36(3):425-433.

Yun SI, Jeong CS, Chung DK, Choi HS 2004. Purification and some properties of a β -glucosidase from *Trichoderma harzianum* type c-4. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry* 65:293-306.

Soil Extracellular Enzymes from Brazilian Cerrado as Quality Bioindicators in Agricultural Areas in Goiás, Brazil

ABSTRACT

The conversion of native Cerrado areas for the implementation of crops alters the physicochemical properties and biochemistry of soil. In this study we sought to understand the effect of seasonality and management used for planting sugarcane on the activity of hydrolases and oxidoreductases. Cerrado native soil samples and soil converted to sugarcane crops under different management underwent physical-chemical assessment, biological and biochemistry. The implementation of monocultures in Brazilian Cerrado caused reductions in the amount of organic matter and organic carbon in relation to the native vegetation, which in turn reflected in decreased biological activity in the soil. Thus, it was found that hydrolases and oxidoreductases are sensitive to the caused variations in drought and rain events, and in the vegetation cover and management used for the implementation of sugarcane.

Enzimas Extracelulares de Solos de Cerrado como Bioindicadores de Qualidade em Áreas
Agricultáveis em Goiás, Brasil

Leciana de M. S. Zago; Rogério N. Oliveira; Anne Kethlen G. Bombonato; Letícia de O. Moreira;
Erik Nelson de P. Melo; Samantha S. Caramori

Therefore soil hydrolases and oxidoreductases can be used as quality bioindicators in the Cerrado soils of Goiás.

Keywords: Sugarcane; Tillage; Hydrolase; Oxidoreductase.

Data Submissão: 30/04/2016
Data Aceite: 25/05/2016